

Characterization of Stress Responsive Mechanisms in Soybean under Flooding and Drought Stresses using Quantitative Proteomic Approach

著者	WANG Xin
発行年	2017
その他のタイトル	定量プロテオミクス解析技術を用いたダイズの冠水および乾燥に対する応答機構の解明
学位授与大学	筑波大学 (University of Tsukuba)
学位授与年度	2017
報告番号	12102甲第8373号
URL	http://hdl.handle.net/2241/00149973

氏名	WANG Xin		
学位の種類	博 士（生物工学）		
学位記番号	博 甲 第 8373 号		
学位授与年月日	平成 29年 9月 25日		
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当		
審査研究科	生命環境科学研究科		
学位論文題目	Characterization of Stress Responsive Mechanisms in Soybean under Flooding and Drought Stresses using Quantitative Proteomic Approach (定量プロテオミクス解析技術を用いたダイズの冠水および乾燥に対する応答機構の解明)		
主査	筑波大学教授	農学博士	松本 宏
副査	筑波大学教授	博士（理学）	田中俊之
副査	筑波大学講師	博士（農学）	春原由香里
副査	筑波大学非常勤研究員	博士（薬学）	小松節子

論 文 の 要 旨

地球規模で顕在化している気候変動や人口増加などにより、世界の食糧需給は逼迫することが予想される。この問題を解決するためには、農業生物の潜在能力を最大限に引き出すとともに、飛躍的な機能向上を可能にする技術開発が求められている。温室効果ガスの排出は温暖化を招き、降水量や降雨パターンを大きく変動させ、洪水や干ばつ等の異常気象が世界各地で頻発している。洪水や干ばつによる冠水や乾燥等の非生物学的環境ストレスは、作物に生長抑制や収量低下を招く深刻な問題である。中でもダイズは、消費量が穀類に次いで4番目であるにもかかわらず、環境ストレスに弱い作物である。特にアジア地域では、ダイズの播種が梅雨の時期に重なり、さらに成長期に乾燥ストレスに晒されるため、栽培に困難を生じている。この時期のストレス応答機構の解明は、ストレス耐性作物の選抜につながるため重要な課題である。審査対象論文で著者は、生育初期のダイズにおける相反する非生物学的ストレスである冠水と乾燥に着目して、両ストレスによる障害を改善することを目指し、その応答機構を解析している。

著者は、第1章において、冠水および乾燥ストレス下の生育初期のダイズを採取し、形態学的・タンパク質科学的に比較検討している。生育初期のダイズを出芽期と幼苗期に分類し、それぞれに根、胚軸、子葉、葉等の器官特異的な試料を用いて、タンパク質を包括的に解析する手法であるプロテオミクス解析を行った。それぞれのストレス下で変動するタンパク質数の違いから、ダイズは出芽期の根端においてストレス感受性が高いと判断した。ストレス応答機構の違いについては、変動するタンパク質群を情報科学的に機能分類し、特に根端部分では、ビオチン代謝や嫌気代謝によるエネルギー供給の変動により、生育が抑制されていることを明らかにしている。

第2章においては、さらに詳細に両ストレスのダイズ根に対する応答機構の相違を検討するために、小胞体ストレスに着目し、小胞体を精製しプロテオミクス解析を行っている。タンパク質フォールディング時に、カルネキシンは、冠水下ではタンパク質ジスルフィド異性化酵素、乾燥下では熱ショックタンパク質のそれぞれに関与していることを示した。また、カルレテイキュリン・カルネキシン回路の抑制による糖鎖付加の抑制および細胞質カルシウム量の増加も明らかにしている。

第3章においては、プロテオミクス解析から得られた結果のうち、カルシウム情報伝達およびタンパク質プロセッシングの関与に着目し、生化学・分子生物学的に検討を加えた。細胞膜や小胞体膜のカルシウムチャンネル等の阻害剤を用いて細胞内カルシウム量を変動させ、冠水および乾燥ストレス下でのカルシウムによる制御機構を解析した。ストレスによる解糖系、クエン酸回路および嫌気代謝系における障害は、細胞質内カルシウム量を増加させることにより回復させることが可能であることを明らかにしている。

本論文で著者は、冠水と乾燥によるストレス下では、ビオチン代謝、ポリアミン代謝、解糖系流量、カルシウム情報伝達およびタンパク質プロセッシング等に関与する多くのタンパク質群が制御されていることを示している。特に、両ストレスによるカルシウムの上昇時における、ピルビン酸脱炭酸酵素が鍵となっていることを明らかにした。一方で、染色体地図を作成し、ダイズにストレスを付与する技術につなげようとしている。つまり、冠水ストレスにより変動する176個のタンパク質と乾燥ストレスにより変動する100個のタンパク質の遺伝子群をダイズ染色体上に配置し、第13染色体にストレス応答性タンパク質を支配する遺伝子が集約していることを明らかにした。そして、同染色体上にピルビン酸脱炭酸酵素遺伝子も局在していることから、この遺伝子を利用することにより、冠水と乾燥ストレスによる障害を初期に改善する手法につながることを示唆している。

審 査 の 要 旨

著者は、生育初期のダイズにおける相反する非生物学的ストレスである冠水と乾燥に着目して、両ストレスによる障害を改善することを目指した。形態学的、植物生理学的、タンパク質科学的、さらに情報科学的手法を駆使して、包括的かつ綿密に解析している。特に、両ストレスによる障害の発現機構の相違を明らかにするために、プロテオミクス解析技術を導入し、ストレス特異的、時期特異的、器官特異的、細胞内小器官特異的に詳細に解析した点において新規性がある。さらにプロテオミクス解析から得られた結果の内、カルシウム情報伝達およびタンパク質プロセッシングの関与に着目し、生化学・分子生物学的に検討を加えた点が独創的である。冠水と乾燥の両ストレスにより変動するピルビン酸脱炭酸酵素がカルシウムにより支配されていることを明らかにし、一方で、染色体地図を作成することにより、ダイズにストレス耐性を付与する技術につなげようとした点は、高く評価される。

平成29年7月24日、学位論文審査委員会において、審査委員全員出席のもとに論文の審査及び最終試験を行い、本論文について著者に説明を求め、関連事項について質疑応答を行った。その結果、審査委員全員によって合格と判定された。

よって、著者は博士（生物工学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものとして認める。